



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 101 14 141 A 1**

⑤1 Int. Cl.⁷:
A 61 B 5/08

⑦1 Aktenzeichen: 101 14 141.6
⑦2 Anmeldetag: 16. 3. 2001
⑦3 Offenlegungstag: 19. 9. 2002

⑦1 Anmelder:

Laser- und Medizin- Technologie GmbH, 14195
Berlin, DE

⑦2 Erfinder:

Müller, Gerhard, Prof. Dr.-Ing., 14129 Berlin, DE;
Bindig, Uwe, Dr., 14167 Berlin, DE; Leonhardt,
Jürgen, Prof., 10179 Berlin, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Der Inhalt dieser Schrift weicht von den am Anmeldetag eingereichten Unterlagen ab

⑤4 Gerät zur Tuberkulosediagnostik

⑤7 Die Erfindung betrifft ein Gerät zum frühzeitigen, nicht invasiven diagnostischen Nachweis der Erkrankung an Tuberkulose. Speziell soll es mit diesem Verfahren möglich sein, Tuberkulose anhand der Ausatemluft zu erfassen. Biochemische Marker und Leitmoleküle im Metabolismus der TBC-Bakterien als auch Veränderungen des Ausatemgases als Folge der Infektion des Wirtes sollen mit einem messtechnischen Verfahren, dem Ionen-Drift-Sensor, erfasst werden. Durch Pyrolyse der im Aerosol des Ausatemgases vorhandenen TBC-Erreger können charakteristische gasförmige organische Verbindungen und Fragmente erzeugt werden, die einer Detektion zugeführt werden. Die kontrollierte pyrolytische Zersetzung erfolgt an Oberflächen. Bei geringem Anteil an pathogenen TBC-Erregern sind Maßnahmen zur Erhöhung der Konzentration vorgesehen. Laserspektroskopische Verfahren werden zur Kalibrierung des Gerätes genutzt.

DE 101 14 141 A 1

DE 101 14 141 A 1
BEST AVAILABLE COPY

Beschreibung

Aufgabenstellung

[0001] Es ist bekannt, dass das bakterielle Infektionen z. B. des Mycobacterium Tuberculosis durch Tröpfcheninfektion im Aerosol der Ausatemluft übertragen wird. Die konventionelle Diagnostik über Anzucht von Zellkulturen ist zeitaufwendig und soll durch ein neues Echtzeitverfahren ersetzt werden.

Stand der Technik

[0002] Zum Nachweis luftgetragener Kontaminationen müssen i. d. R. zeitaufwendige, ggf. über mehrere Tage andauernde Untersuchungen durchgeführt werden. Speziell im Gesundheitswesen, Medizin, Medizintechnik, Biotechnologie und Lebensmittelindustrie ist die Überwachung unabdingbar da ein hohes Gefährdungspotential gegeben ist. Zur Überwachung werden lebende Mikroorganismen z. B. Tuberkulosebakterien – Erreger mit hoher Infektiosität und obligater Pathogenität – durch Abscheidung auf Nährböden bzw. direkt in Kulturmedien mit einer anschließenden Bebrütung von ca. 2–5 Tagen oder länger und einer abschließenden Analyse mittels $^{14}\text{CO}_2$ nachgewiesen. Die visuelle Mikroskopie an Exsudaten ergibt mit geringer Sensitivität lediglich im Fortgeschrittenen Stadium Anhaltspunkte. Probenahme, Handhabung, äußere Einflüsse wie z. B. Sterilität, Klimabedingungen, Personal- und Zeitaufwand stellen kritische Faktoren für die Informationsgewinnung dar. Fehlerhafte Bearbeitungen bedingen einen Neuansatz. Der enorme Zeitverzug hat für die korrekte Diagnosestellung und die Einleitung entsprechender Gegenmaßnahmen fatale Folgen. Das in aller Kürze beschriebene Verfahren ist als Goldener Standard zum Nachweis bakterieller Infektionen in der Humanmedizin etabliert.

Erfindungsgemäße Lösung

[0003] Erfindungsgemäß soll z. B. die Tuberkulosedagnostik in der Ausatemluft kontaminierter Personen erfolgen, wobei mehrere Stufen der Infektion auch durch verschiedene Messprinzipien, die alle erfindungsgegenständlich sind, gleichzeitig erfasst werden sollen.

[0004] Im fortgeschrittenen Stadium der Tuberkulose, der sogenannten kavernösen Tuberkulose, treten in der Regel, z. T. durch die grampositiv, anaerob wachsenden Tuberkulosebakterien selbst bedingt, wie durch Überinfektionen, in den Kavernen des Lungenemphysems Fäulnis- und Nekroseprozesse auf, die in der Ausatemluft des Patienten durch ein von der normalen Ausatemluft unterschiedliches Pattern an Biomolekülen gekennzeichnet ist. Eine statistische Analyse dieser für die fortgeschrittene Tuberkuloseinfektion typischen Moleküle durch messtechnische Verfahren, wie z. B. die Anwendung eines Ionen-Drift-Sensors oder der Einsatz eines mikroelektronischen Widerstandsnetzwerkes auf einem Chip, mit dessen Hilfe spezifische Leitwertänderungen durch die in der Ausatemluft vorhandene Moleküle gemessen werden können, sind messtechnische Lösungen der vorliegenden Erfindung.

[0005] In einem früheren Stadium der Tuberkuloseinfektion sind in der Ausatemluft der kontaminierten Person ebenfalls Leitmoleküle, die als Abbauprodukte des Stoffwechsels des Tuberkulosebakteriums entstehen, grundsätzlich nachweisbar, wobei jedoch die Quersensitivität zu den Stoffwechselprodukten anderer, auch beim gesunden Probanden vorhandener Bakterien der Mund- und Rachenflora zu einer erhöhten Quersensitivität führen. Es soll

daher erfindungsgemäß das Vorhandensein der Tuberkulosebakterien im Aerosol der Ausatemluft direkt dadurch nachgewiesen werden, da sich überraschenderweise gezeigt hat, dass bei Pyrolyse des infizierten Aerosols charakteristische Fragmente des Mycobacteriums entstehen, die ihrerseits messtechnisch spezifisch nachgewiesen werden können, wobei in einem erfindungswesentlichen Schritt hierfür ebenfalls ein Ionen-Drift-Sensor nach dem Stand der Technik verwendet wird und in einem anderen erfindungswesentlichen Schritt der Nachweis dieser Pyrolysefragmente mit Laserspektroskopischen Methoden erfolgt.

[0006] Erfindungsgemäß erfolgt die pyrolytische Zersetzung des im infizierten Aerosol der Ausatemluft enthaltenen Mycobacteriums Tuberculosis an katalytischen Oberflächen wie z. B. thermisch aufgeheizten Platinnetzen oder katalytisch beschichteten Kapillarbündeln.

[0007] In Weiterführung des Erfindungsgedankens können derartige Kapillarbündel auch mit Methoden der Sol-Gel-Technik beschichtet sein und mit speziellen molekularen Sensitizern über Fluoreszenzanregung oder Quenchingschritte das Mycobacterium unmittelbar nachweisen.

[0008] Eine Analyse der gasförmigen Ausatemluft kann ebenso ohne Pyrolyse erfolgen. Aus hygienischen Gründen wird für die Probenaufgabe erfindungsgemäß ein kurzes, austauschbares Mundstück verwendet. Eine effektive Kondensation partikulärer Bestandteile des Aerosols – Konzentrierung – kann durch die Zugabe von Gasen wie z. B. von Wasserdampf auf Oberflächen erfolgen.

[0009] Eine der erfindungsgemäß nachzuweisenden Leitkomponenten aus der pyrolytischen Zersetzung der Bakterienmembran (Taxonomie) sind u. a. Fragmente oder Reaktionsprodukte von Mykolsäuren (verzweigte hochmolekulare Hydroxycarbonsäuren), Picolinsäure und Lipide sowie deren Derivate.

[0010] Weitere zentrale Bestandteile der Bakterienzellmembran sind: meso-Diaminopimelinsäure, Muraminsäure neben Glucosamin, Arabinose, Galactose. Diese biochemischen Verbindungen können zum einen im nativen Zustand, als auch bedingt durch kontrollierte Pyrolyse, in Form von Molekülfragmenten der Detektion zugeführt werden.

[0011] Die wesentlichen Erfindungsschritte sind in den Abb. 1&2 dargestellt. Dabei zeigt Abb. 1 die schematische Anordnung einer Anlage zur Schnelltestung von Tuberkulose. Abb. 2 zeigt Details der pyrolytischen Katalysatoreinrichtung.

[0012] Die prinzipielle Detektoranordnung erfolgt auf der Basis eines Ionen-Drift-Sensor bzw. einer Laser-Fluoreszenzmesstechnik. Erfindungsgemäß werden zur Eichung des Verfahrens solche auf Laserspektroskopische Methoden basierende Referenzmessverfahren verwendet.

[0013] Die Laserspektroskopie wird zur Qualitätssicherung des medizinischen Diagnoseverfahren eingesetzt.

[0014] Von dem erfindungsrelevanten Verfahren werden gegenüber der Hintergrundbelastung (Umgebungs-/Raumluft) sowohl Alveolar positiv als auch negativ eingestufte, gasförmige und flüchtige Anteile im Atemgas erfasst. Erfindungsgemäß ist die Kontrolle der Temperaturstabilität bzgl. einer thermischen Zersetzung bio-organischer Bestandteile ein integraler Bestandteil des Verfahrens für die Reproduzierbarkeit der Messergebnisse.

[0015] Die Anzahl Zellen/Volumen im Aerosol sowie im Ausatemkondensat ist gering, so dass Methoden zur Aufkonzentrierung der pathogenen Zellen bzw. deren Pyrolyseprodukte im Stoffstrom Verwendung finden. Dies sind erfindungsgemäß beispielhaft geeignete Filtermaterialien aus natürlichen und künstlichen Polymeren oder porösen Materialien, deren modifizierte Oberfläche eine selektive Entfernung mithin Aufkonzentrierung definierter Bestandteile be-

wirken. Im bevorzugten Ausführungsbeispiel sind diese Materialien beispielhaft innerhalb des Stoffstromes positioniert. Daneben werden andere kontinuierliche Verfahren im Sinne einer Vorkonzentrierung basierend auf Infrarot oder Mikrowellentechniken zur Vortrocknung bzw. Trocknung der Probe genutzt. 5

[0016] In einem weiteren erfindungsrelevanten Verfahren zur Probenvorbehandlung erfolgt extern die Zugabe spezieller Substanzen, um die Möglichkeit der Zellyse während des Ausatmens zu gewährleisten. Beispielhaft führt dies bei der Absorption des Atemgasstromes in einem minimalen Volumen an Flüssigkeit, desgleichen auch nach Kondensation des Ausatemgas oder der Sorption, der behandelten oder nativen Probe an imprägnierten Filtermaterialien zu einer Veränderung der Zusammensetzung der Gasphase oder zu einer Veränderung hinsichtlich der bakteriellen Zusammensetzung der Flora der humanen Ausatemluft. 15

Erläuterung zu den Abbildungen

Abb. 1: Schematische Anordnung einer Anlage zur Schnelltestung auf Tuberkulose 20

- 1 Atemgaszufluss
- 2 optional, externer Gaszufluss
- 3 Katalysatoreinrichtung 25
- 4 Mundstück
- 5 Vorrichtung zur Eichung des Messverfahren
- 6 Laserspektroskopisches Messverfahren
- 7 Ionenmobilitätsspektrometer
- 8 PC 30

Abb. 2: Schema zur pyrolytischen Katalysatoreinrichtung

- 1 Atemgas
- 2 optional, externer Gaszufluss
- 2.a Gaze/Netz für katalytische Pyrolyse 35

Patentansprüche

1. Verfahren und Vorrichtung zum Schnelltest auf Tuberkulosebakterien **dadurch gekennzeichnet**, dass der Ausatemstrom der kontaminierten Person in ein Detektorsystem geleitet wird, dass in der Lage ist, spezielle tuberkuloserelevante Moleküle und Zellfragmente zu detektieren. 40
2. Verfahren und Vorrichtung nach 1 dadurch gekennzeichnet, dass ein austauschbares Mundstück für die Aufgabe der Atemluft genutzt wird. 45
3. Verfahren und Vorrichtung nach 1 dadurch gekennzeichnet, dass ein Gas für die Kondensation partikulärer Bestandteile der Ausatemluft genutzt wird.
4. Verfahren und Vorrichtung nach 1 dadurch gekennzeichnet, dass als Gas Wasserdampf verwendet wird. 50
5. Verfahren und Vorrichtung nach 1 dadurch gekennzeichnet, dass für die Eichung und Kalibrierung der Vorrichtung eine Methode der Laserspektroskopie genutzt wird. 55
6. Verfahren und Vorrichtung nach 1 dadurch gekennzeichnet, dass im Rahmen der Qualitätssicherung laserspektroskopische Verfahren verwendet werden.
7. Verfahren und Vorrichtung nach 1 dadurch gekennzeichnet, dass die Pyrolyse bakterieller Mikroorganismen vor der Ionisierung erfolgt. 60
8. Verfahren und Vorrichtung nach 1 dadurch gekennzeichnet, dass ein Ion-Drift-Sensor zur Detektion verwendet wird.
9. Verfahren und Vorrichtung nach 1 und 3 dadurch gekennzeichnet, dass Kapillarbündel verwendet werden. 65
10. Verfahren und Vorrichtung nach 1-3 dadurch gekennzeichnet, dass ein Ion-Drift-Sensor zur Detektion verwendet wird.

kennzeichnet, dass zur Probenvorbehandlung spezielle Filtermaterialien eingesetzt werden.

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

BEST AVAILABLE COPY

1

- Leerseite -

DESIGNABLE COPY

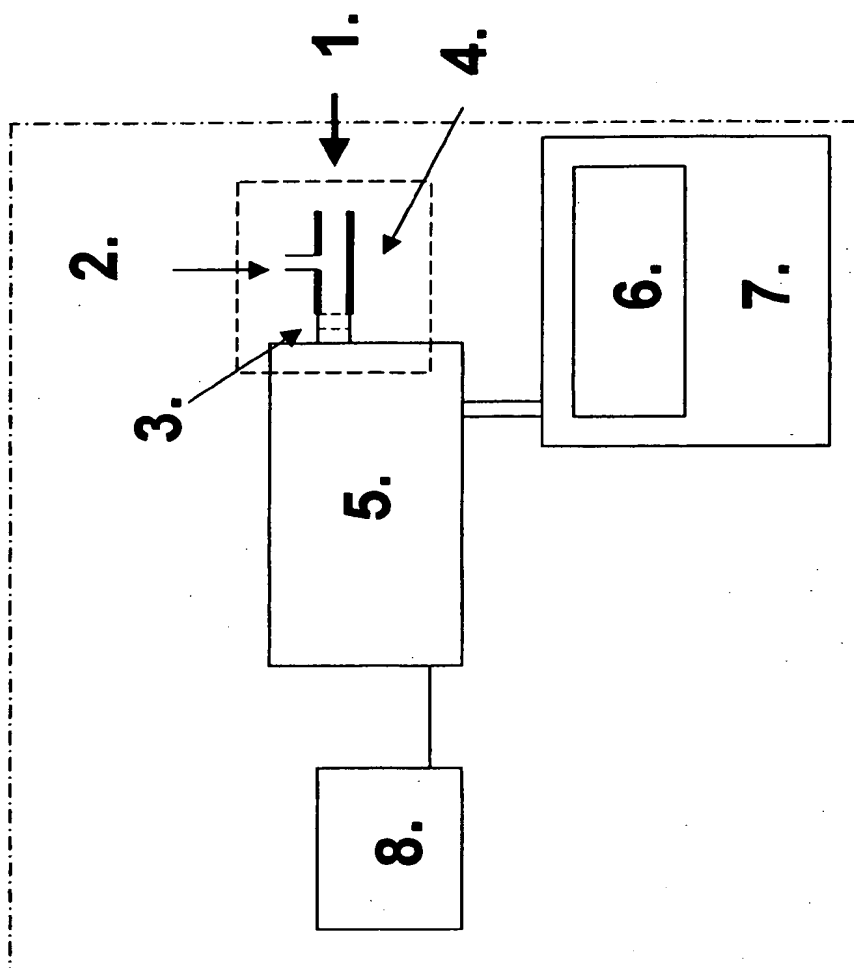


Abb.1

BEST AVAILABLE COPY

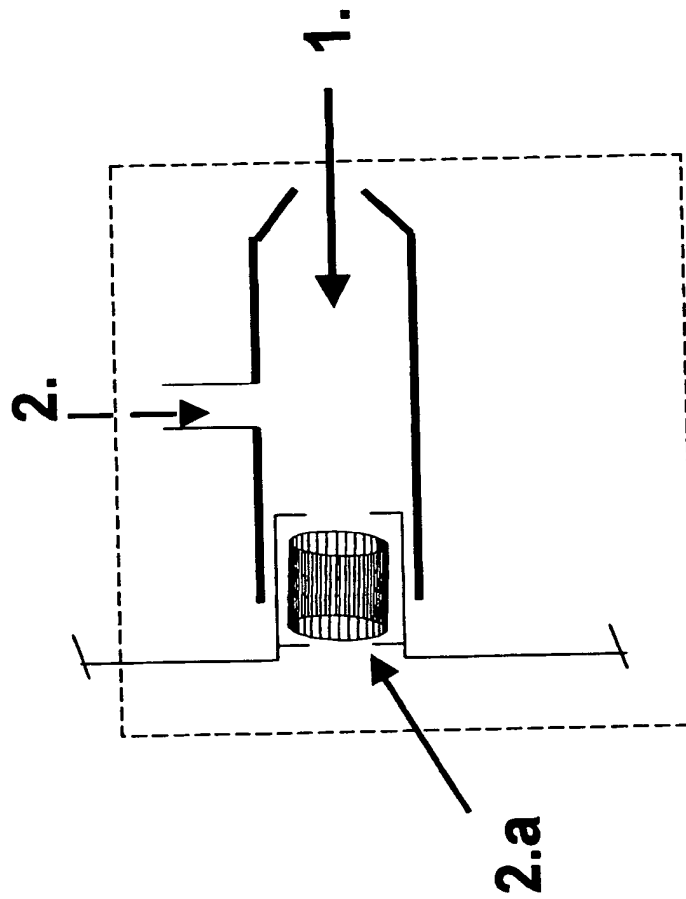


Abb.2

DE 101 14 141 A1